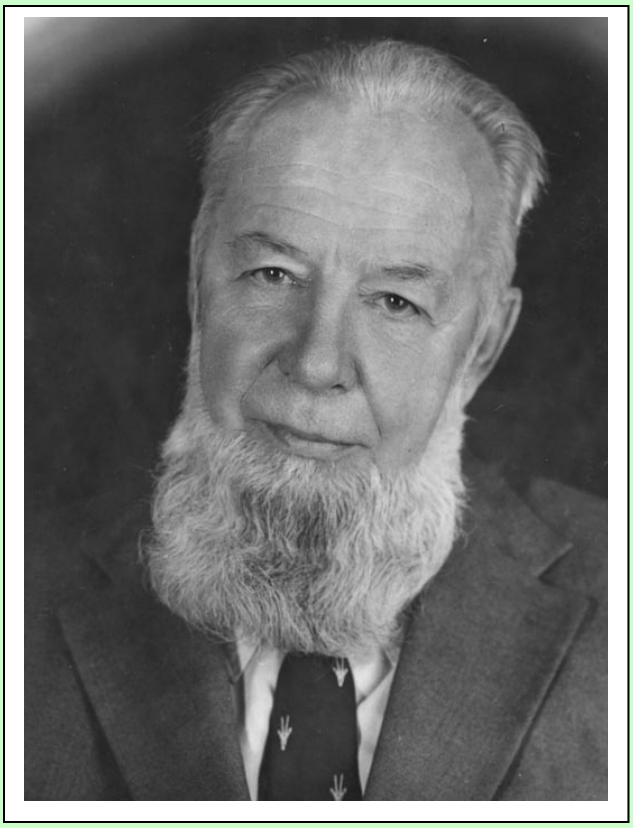
ЕВРОАЗИАТСКАЯ РЕГИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ ЗООПАРКОВ И АКВАРИУМОВ
ГАУ «Московский государственный зоологический парк»
ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина»



Современные проблемы зоологии, экологии и охраны природы

Материалы чтений и научной конференции, посвященных памяти профессора Андрея Григорьевича Банникова, и 100-летию со дня его рождения

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОЗЕРНЫХ ЛЯГУШЕК *Pelophylax ridibundus* s.l. ИЗ ВЕРХНЕГО ПООЧЬЯ

А.Ю. Иванов[1], В.А. Корзиков[2], С.К. Алексеев[3], О.А. Ермаков[1]
[1]Пензенский государственный университет, г. Пенза
[2]Калужский государственный университет, г. Калуга
[3]Калужское общество изучения природы, г. Калуга
akella58@mail.ru

К настоящему времени установлено, что озерная лягушка *Pelophylax ridibundus* sensu lato представляет собой комплекс из нескольких морфологически сходных видов. На территории нашей страны по ряду физиологических и биохимических параметров были выделены две криптические формы озерной лягушки – «западная» и «восточная» (Боркин и др., 2004; Литвинчук и др., 2008).

Сравнение первичных последовательностей фрагментов ядерного (*SAI*) и митохондриального (*COI*) генов озерных лягушек обитающих на территории Поволжья с экземплярами из баз данных NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Plötner et al., 2009, 2012) и BOLD (www.boldsystems.org) позволяет нам считать, что «западная» форма является конспецифичной центрально-европейской *P. ridibundus*, а «восточная» – анатолийской *P.* cf. *bedriagae* (Ермаков О.А., неопубликованные данные).

Молекулярно-генетический анализ выборок *P. ridibundus* проведенный нами в Среднем Поволжье позволил выявить в регионе зону совместного обитания лягушек, генетические маркеры которых принадлежали как «западной» и «восточной» формам, так и особям гибридного происхождения (Ермаков и др., 2013, 2014; Закс и др., 2013).

Настоящее сообщение посвящено изучению распределения аллелей двух генетически дифференцированных криптических форм озерной лягушки на территории Верхнего Поочья. К исследованному региону относится западная часть бассейна р. Оки от впадения в нее р. Черепеть в Тульской области до впадения в нее р. Нары Московской области, в административном отношении большая часть этой территории приурочена к Калужской области.

Материал и методы

Всего проанализировано 34 экз. зеленых лягушек из восьми географических пунктов Калужской области и одного Тульской. Ниже приведены названия и адрес локалитетов, координаты и количество исследованных экземпляров (номера локалитетов соответствуют таковым точкам на карте (рис.)):

1. Калужская обл., г. Калуга, р. Яченка (54°30'39,12" с.ш., 36°12'54,65" в.д.), *P. ridibundus, n* – 6 экз.

2. Калужская обл., г. Калуга, пруд в пойме р. Ока (54°30'04,50" с.ш., 36°19'52,24" в.д.), *n* – 6 экз.

3. Тульская область, Суворовский р-н., д. Варушицы (54°11'51,34" с.ш., 36°18'04,68" в.д.), *n* – 4 экз.

4. Калужская область, Дзержинский р-н, п. Товарково (54°40'37,17" с.ш., 35°55'39,15" в.д.), *n* – 4 экз.

5. Калужская область, Ферзиковский р-н, д. Бебелево (54°31'47,05" с.ш., 36°29'35,23" в.д.), *n* – 1 экз.

6. Калужская область, Ферзиковский р-н, д. Ладыгино (54°25'18,07" с.ш., 36°40'50,33" в.д.), *n* – 3 экз.

7. Калужская область, Сухиничский р-н, г. Сухиничи (54°07'25,33" с.ш., 35°20'39,05" в.д.), *n* – 3 экз.

8. Калужская область, Юхновский р-н, д. Натальинка, пруд (54°45'02,71" с.ш., 35°19'36,48" в.д.), *n* – 4 экз.

9. Калужская область, Юхновский р-н, д. Натальинка, р. Угра (54°45'43,64" с.ш., 35°18'45,11" в.д.), *n* – 3 экз.

Молекулярно-генетический анализ выполнен в лаборатории молекулярной экологии и систематики животных при кафедре зоологии и экологии Пензенского государственного университета. В качестве образцов тканей для выделения ДНК использовалась часть пальца передней конечности амфибий, взятая прижизненно. Использовались два молекулярно-генетических маркера: для митохондриальной ДНК (мтДНК), наследуемой по материнской линии – фрагмент первой субъединицы гена цитохром оксидазы *COI*, для ядерной ДНК (яДНК), имеющей «менделевский» тип наследования – интрон 1 гена сывороточного альбумина *SA1* (Plötner et al., 2009).

Генетическое типирование, позволяющее определять принадлежность гаплотипов мт- и яДНК к «восточной» или «западной» форме проводилось по методике опубликованной нами ранее (Закс и др., 2013). При расчете частот встречаемости гаплотипов учитывалось, что мтДНК является гаплоидной и формально может рассматриваться как один аллель, поэтому процентное соотношение аллелей и исследованных экземпляров равно. яДНК диплоидна, содержит два аллеля одного гена, соответственно доли аллелей и экземпляров той или иной формы различны в зависимости от соотношения гомо- и гетерозиготных особей.

Результаты и обсуждение

Результаты молекулярно-генетического анализа изученных экземпляров озерных лягушек приведены в таблице (табл. 1) и на карте (рис.).

В первую очередь необходимо отметить отсутствие на исследованной территории специфичного для «восточной» формы типа мтДНК, т.е. у всех изученных экземпляров обнаружен только «западный» тип мтДНК. Преобладание аллелей «западной» формы обнаружено и при анализе маркера яДНК – 59% озерных лягушек являлись гомозиготами и диагностировались как «чистая» «западная» форма, 29% были гетерозиготами и лишь 12% были гомозиготами «восточной» формы. Аллели «западного» типа яДНК превалировали в пяти точках – 1, 2, 4, 8, 9, причём в трех из них – 2, 4, 8 аллели «восточного» типа не найдены. В двух точках – 5 и 6 наблюдается равное соотношение аллелей как «западного», так и «восточного» типа, а к югу – точки 3 и 7, отмечается большее количество аллелей «восточного» типа.

Таблица 1. Распределение типов мт- и яДНК у особей озерной лягушки (n=34)

Локалитет	**n**	*COI мтДНК*		
		R		
		SAI-1 яДНК		
		RR	**RB**	**BB**
1. г. Калуга, р.Яченка	6	6	–	–
2. г. Калуга, р. Ока	6	4	2	–
3. д. Варушицы	4	1	1	2
4. п. Товарково	4	4	–	–
5. д. Бебелево	1	–	1	–
6. д. Ладыгино	3	–	3	–
7. г. Сухиничи	3	–	1	2
8. д. Натальинка, пруд	4	4	–	–
9. д. Натальинка, р. Угра	3	1	2	–
Итого	34 (100%)	20 (59%)	10 (29%)	4 (12%)

Примечание к таблице 1: **R** – аллели яДНК и гаплотипы мтДНК «западной» формы озерной лягушки, **B** – аллели яДНК и гаплотипы мтДНК «восточной» формы.

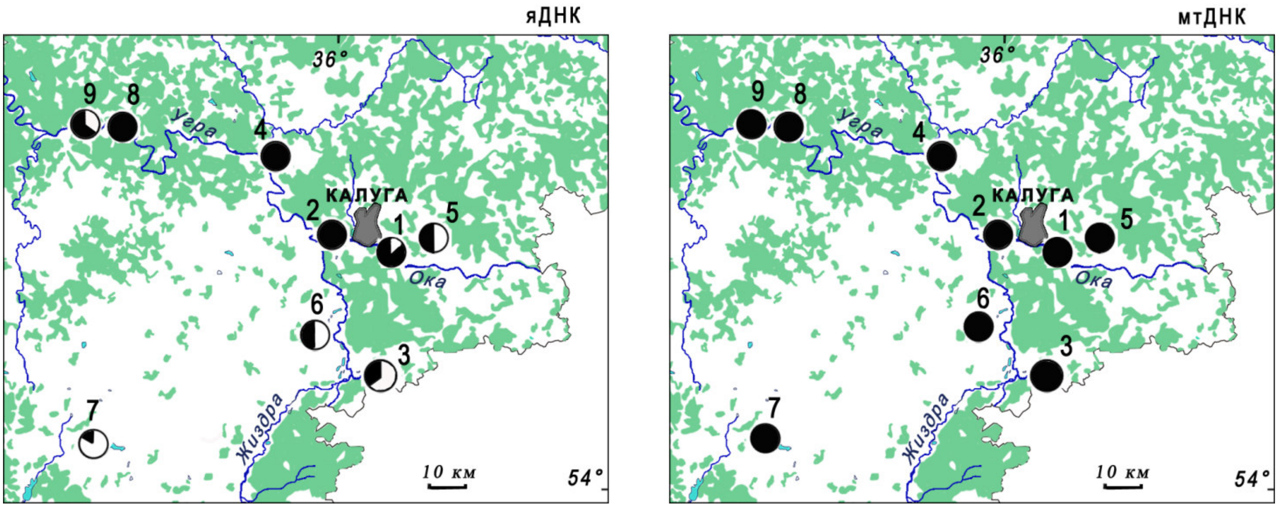


Рис. Распространение аллелей яДНК и гаплотипов мтДНК «западной» (отмечена черным цветом) и «восточной» (отмечена белым) форм озерной лягушки на территории Верхнего Поочья.

Сравнение частот гаплотипов мтДНК озерных лягушек из Верхнего Поочья с данными, полученными ранее в Поволжье (табл. 2), выявило статистически поддержанные различия по этому маркеру (χ^2=105.34, $p<0.001$) между исследованными регионами. Однако при сравнении частот аллелей яДНК достоверных различий между исследованными территориями не обнаружено (χ^2=4.50, p=0.051) и в обоих случаях превалирует «западный» вариант ядерного генома.

Таблица 2. Соотношение «западных» (**R**) и «восточных» (**В**) гаплотипов мтДНК и аллелей яДНК у озерных лягушек в изученных регионах

Регион	**n**	**R**	**В**	**Публикация**
мтДНК				
Верхнее Поочье	34	100%	0%	Данная работа
Поволжье (Пензенская, Самарская и Саратовская области)	214	31%	69%	Ермаков и др., 2013, 2014
яДНК				
Верхнее Поочье	68	74%	26%	Данная работа
Поволжье (Пензенская, Самарская и Саратовская области)	342	86%	14%	Ермаков и др., 2013, 2014

Полученные результаты вывили несоответствие частот распределения маркеров мт- и яДНК у озерных лягушек из Верхнего Поочья, а именно отсутствие «восточных» гаплотипов мтДНК при наличии «восточных» аллелей в ядерном геноме. Подобная ситуация может объясняться двумя причинами. Первая: в расселении «восточной» формы участвуют преимущественно самцы и при скрещивании с «западными» самками следы гибридизации можно обнаружить только в ядерном геноме, а мтДНК в силу наследования по материнской линии, остается «западной». Вторая: наличие у озерных лягушек двух вариантов ядерных маркеров «западного» и «восточного» является проявлением анцестрального полиморфизма.

Литература

Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Скоринов Д.В. // О криптических видах (на примере амфибий) // Зоологический журнал. 2004. Т. 83. Вып. 8. С. 936–960.

Ермаков О.А., Закс М.М., Титов С.В. Диагностика и распространение "западной" и "восточной" форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s.l. в Пензенской области (по данным анализа гена COI мтДНК) Вестник ТГУ. 2013. Т.18, вып.6. С. 2999–3002.

Ермаков О.А., Файзулин А.И., Закс М.М., Кайбелева Э.И., Зарипова Ф.Ф. Распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s.l. на территории Самарской и Саратовской областей (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) // Известия Самарского центра РАН. 2014. Т. 16. №5(1). С. 409–412.

Закс М.М., Быстракова Н.В., Ермаков О.А., Титов С.В. Молекулярно-генетическая и морфологическая характеристика озерных лягушек (*Pelophylax ridibundus*) из Пензенской области // Современная герпетология: проблемы и пути их решения. Статьи по материалам докладов Первой международной молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран. СПб., 2013. С. 86–89.

Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Боркин Л.Я., Скоринов Д.В. Молекулярно-биохимические и цитогенетические аспекты микроэволюции у бесхвостых амфибий фауны России и сопредельных стран // Вопросы герпетологии. Материалы Третьего съезда Герпетологического общества им. А. М. Никольского. СПб: 2008. С. 247–257.

Plötner J., Köhler F., Uzzell T., Beerli P., Schreiber R., Guex G.D., Hotz H. Evolution of serum albumin intron-1 is shaped by a 5’ truncated non-long terminal repeat retrotransposon in western Palearctic water frogs (Neobatrachia) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. V. 53. P. 784–791.

Plötner J., Baier F., Akin C., Mazepa G., Schreiber R., Beerli P., Litvinchuk S.N., Bilgin C.C., Borkin L., Uzzell T. Genetic data reveal that water frogs of Cyprus (genus *Pelophylax*) are an endemic species of Messinian origin // Zoosystematics and Evolution. 2012. Vol. 88. Issue 2. P. 261–283.

Summary

A.Yu. Ivanov, V.A. Korzikov, S.K. Alekseev, O.A. Ermakov **Molecular and genetic characteristic of Marsh frogs of *Pelophylax ridibundus* s.l. from top Poochye**

The received results brought discrepancy of frequencies of distribution of markers the mitochondrial and nuclear DNA at Marsh frogs from the top Poochye, namely lack of "east" haplotypes of mt-DNA in the presence "east" alleles in a nuclear genome. The similar situation can speak two reasons. The first: males participate in moving of "east" form mainly and when crossing with the "western" female’s traces of hybridization can be found only in a nuclear genome, and mt-DNA owing to inheritance on the maternal line, remains "western". The second: existence at Marsh frogs of two options of nuclear markers "western" and "east" is manifestation of ancestral polymorphism.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПРОБЛЕМЫ ОХРАНЫ КАМЫШОВОЙ ЖАБЫ (*Epidalea calamita*) В БЕЛАРУСИ

С.М. Дробенков
ГНПО «НПЦ Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам»
bel_gerpetology@rambler.ru

Камышовая жаба (*Epidalea calamita* Laurenti, 1768) – преимущественно западноевропейский вид, численность популяций которого к северу и востоку прогрессивно снижаются (Beebee, 1979). На большей части ареала отмечается спорадичность распространения и низкая численность этого вида, которые связываются с разными причинами: характером водоемов размножения и низким успехом метаморфоза (Tejedo, Reques, 1994; Beebee et al., 1996), воздействием конкуренции и прямого хищничества со стороны других видов земноводных в водной фазе жизненного цикла (Banks, Beebee, 1987), влиянием антропогенных факторов (Denton, Beebee, 1993; Beebee et al., 1996).

В восточной части ареала – в Литве, Латвии, Эстонии, Беларуси, Украине и России, камышовая жаба – редкий, малочисленный вид